

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 大城 由紀
横浜市立大学大学院医学研究科
医科学専攻

審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学教授 松本直通

副査 横浜市立大学大学院医学研究科泌尿器科学教授 矢尾正祐

副査 横浜市立大学大学院医学研究科循環制御医学教授 横山詩子

博士の学位論文審査結果の要旨

血管平滑筋特異的 ATP2B1 ノックアウトマウスにおける高血圧メカニズムと降圧薬の効果

高血圧症でこれまでの関連解析研究で同定された ATP2B1 遺伝子を対象にその発現低下が引き起こす高血圧がカルシウムチャネル阻害で抑制できるかどうかを明らかにしようとした研究で、仮説を支持するカルシウムチャネル拮抗薬の一定の効果を示すことを証明した研究である。

横山副査から以下の質問があった。(Q: 質問、A: 申請者の回答)

Q まとめのスライドで、L 型カルシウムチャネルの発現の上昇が認められたことは確かだが、そこから VSMC の収縮の発現につながっているか、細胞内カルシウム濃度の上昇につながっているかについては本研究で証明されているとは言えず、スライドの矢印は不適である。細胞での証明が必要だと思われる。

A 細胞での実験はこころみたが、コントロールマウスの細胞では実験系を確立できたがノックアウトマウスはフェニレフリン応答が悪く、数か月細胞培養のやりなおしなども雄こなたが実験できなかったため断念した。

Q PMCA は Ca イオンのアフィニティーは高いがカルシウム濃度調整としては微調整であり、それよりもハウスキーピングなどに関与しており、VSMC の細胞内カルシウム濃度の上昇が本当に高血圧をきたしているのかは不明なのではないか？それよりも VSMC の細胞の状態によるものではないか？

A ノックアウトマウスの細胞の増殖は悪い印象にあり、その可能性はあると考えられる。

Q 血管構造の変化は認められたか？

A 認められなかった。

Q 自律神経の変動とのかかわりは？

A ノックアウトマウスの高血圧は終日認められていること、脈拍の上昇を認められなかったことなどから否定的と考えており、今回 α 遮断薬を投与し降圧の差がなかったことから裏付けがとれた。

Q レニンは測定したか？

A レニン、アンジオテンシノーゲンを mRNA レベルで測定しており、今回の RAS 阻害薬

の結果と合わせて RAS の関与はないと考えられた。

矢尾副査より以下の質問があった。

Q nNOS の検出法は引用文献と同じであるか？

A その文献と同じであったかどうかは覚えておらずお答えできないが、nNOS のウェスタンブロットについては他の文献を調べ、広く行われている方法であったし、抗体の選択などは文献を参考にしているため適していると考えている。

Q 他の経路の関与に関してはどうか？

A 前述のとおり RAS や交感神経の関与は否定的であると考えている。本研究の limitation として利尿剤の投与をしていないことがあげられるが、体重や代謝ケージでのナトリウムバランスに違いはなく、水分貯留やナトリウム貯留は否定的とは考えている。

Q 今回の結果をふまえて今後臨床の現場で高血圧の新しい診断や原因の分け方などが提唱されうるか？

A 臨床現場ではもともとカルシウムチャネル拮抗薬が第一選択薬の一つとなっており、この結果ひとつだけでは意味をなさないかもしれないが、他の高血圧候補遺伝子の薬剤応答の結果などがでてきたら有用となる可能性がある。また、SNP のタイピングが今より簡便に、低コストでできるようになる必要もある。

松本主査より以下の質問があった。

Q GWAS で ATP2B1 のリスクアレルをもつと思われる人の割合は？

A おおむね主要な SNP は 4 割程度であり、非常に割合が高い。

Q なぜノックアウトマウスを作製したのか？

A ヒトでの発現低下を認めたため

Q PMCA 1 と 4 のみ調べたのはなぜか

A 1 と 4 は全身性に発現しているが、2 と 3 は神経細胞など限局的な発現であり、VSMC には発現していないため。

Q このノックアウトマウスは PMCA1 のみのノックアウトマウスか？

A PMCA1 の exon10 をノックアウトしており、PMCA1 のみのノックアウトマウスである。よって PMCA4 の上昇は代償である可能性が高い。

Q（コメント）本研究は教室全体の研究の中でどのような位置づけであるのか。ひとつの分子の決め打ちではなく、網羅的に高血圧の研究をしていく方法もあるが、この研究を行うことで高血圧のすべてを解決することは可能なのか？ノックアウトマウスをつくることでなんらかの結果がでるのはある意味当たり前であるし、予定調和的な研究ではないか？

Q 今後の研究の展開は？

A ヒトでの SNP を調べて薬剤応答について検討していきたい。

その他幾つか質問がなされたが何れも的確に回答された。本研究は、高血圧の GWAS 研究に端を発し同定された関連遺伝子に新たな視点を提供する基礎データを提供すると考えられ、博士（医学）の学位に十分値すると判定された。